

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23405007

研究課題名(和文) 北米産ヨモギ属植物セージブラッシュにおける誘導防御反応の適応的意義の解明

研究課題名(英文) Adaptive significance of damage-induced resistance in Sagebrush (*Artemisia tridentata*)

研究代表者

大原 雅 (OHARA, Masashi)

北海道大学・地球環境科学研究科(研究院)・教授

研究者番号：90194274

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 8,700,000円、(間接経費) 2,610,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により、セージブラッシュが各個体で放出する匂いが異なり、さらに個体間の血縁度が高いほど、放出する匂いが似ていることが明らかになった。そこで、野外において血縁度の高い個体の匂いを受容した場合と、低い個体の匂いを受容させた場合とにおいて、受容個体の葉の被害度の違いを調べてみると、血縁度の高い個体の匂いを受容した場合の方が、被害度が明らかに低くなっていた。つまり、セージブラッシュは血縁度の違いまで匂いで識別できることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we characterized the volatile profiles from the headspace of sagebrush ramets. Volatiles were variable among genetically different ramets, although clonal ramets (genetically identical ramets) released similar volatiles, suggesting a genetic basis for volatile similarity. Sagebrush has been shown to be most responsive to volatiles released from artificially produced clones and suffers less herbivore damage as a result. Therefore, these results, taken into consideration together, imply that volatile communication may occur among genetically identical ramets under natural conditions, and that volatile similarity between the releaser and receiver may be recognized by the receiver and increase resistance against herbivory.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：植物間コミュニケーション 誘導防御 血縁度 sagebrush 食害

1. 研究開始当初の背景

動物社会では、自分を犠牲にしても仲間を助ける「利他行動」が観察される。この利他行動は、ダーウィンの自然淘汰説では単純に説明できなかったが、ハミルトンの「包括適応度」と「血縁淘汰」の極めて巧妙な説により、見事に説明された。現在の進化理論は、生物の適応度を1個体の親がそれだけ繁殖可能な子を残せるかで表している（繁殖成功度）。つまり特定の性質は、適応度が1より大きくなれば、進化しない。従って、ある1つの遺伝子の適応度を考えるには、その血縁者も含めた適応度（包括適応度）で考えなくてはならない。この包括適応度で考えると、働きバチは自分の子どもを残さなくても、幼虫の世話をして多くの兄妹を育て上げることにより、自分の遺伝子を自ら繁殖するより多く残すことができ、この利他行動は適応的となり自然淘汰により進化が可能となる。

植物は葉や茎への昆虫などによる食害に対し、さまざまな反応を示すが、食害を受けた後に同個体あるいは他個体の被食が減少する誘導防衛反応を示すものがある。誘導防衛には、被食された個体が防衛を誘導するだけでなく、無傷の近隣個体も防衛を誘導する場合があります、それは「植物間コミュニケーション」として知られている。さらにこのコミュニケーションにおいて、被食時に植物から空気中に放出される揮発性物質がシグナルとして機能していることが報告されている。それらは「植食者誘導性揮発性物質(HIPVs)」と呼ばれ、野外および室内実験からリママメなどでHIPVsによる近隣個体の誘導防衛が報告されている(Arimuraら2000)。

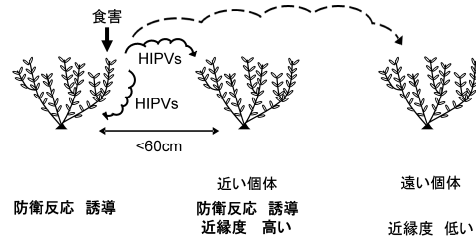
2. 研究の目的

本研究で研究対象とする Sagebrush (*Artemisia tridentata*) は北米の乾燥地域に生育するキク科ヨモギ属の低木種である。Sagebrush は食害などで葉が傷つくと強い匂い(HIPVs)を放出し、自身の防衛反応を誘導する。さらに、Karbanら(2006)の報告ではHIPVs放出個体から60cm以内に生育する無傷の他個体でも、HIPVsを受容すると防衛反応が誘導されることが明らかになっている。また、HIPVsを分析したところ、その組成は個体によって異なっており、近接する個体同士で類似した組成を持つことが示唆されている。本研究では、この動物行動学の分野で検証された「利他行動」および「血縁淘汰」の進化が、植物においても存在するという発想にたち、その実証を試みた。

研究対象とする Sagebrush (*Artemisia tridentata*) は北米の乾燥地域に生育するキク科ヨモギ属の低木種である。Sagebrush は食害などで葉が傷つくと強い匂い(HIPVs)を放出し、自身の防衛反応を誘導する。さらに、Karbanら(2006)の報告ではHIPVs放出個体から60cm以内に生育する無傷の他個体

でも、HIPVsを受容すると防衛反応が誘導されることが明らかになっている。また、HIPVsを分析したところ、その組成は個体によって異なっており、近接する個体同士で類似した組成を持つことが示唆されている。

そこで、本研究は2年間で、以下に示すイメージ図に沿って、大きく2つのポイントを明らかにすることを目的として行った。



植食者誘導性揮発性物質(HIPVs)による誘導防衛と個体の近縁度に関するイメージ図

(1) 誘導防衛機構の解明：トウモロコシでは、HIPVsにより無傷の他個体が食害に対して事前に備え、その後の食害にすばやく反応する植物間コミュニケーションの事例が報告されている(Engelberthら2004)。Sagebrushは食害に対し誘導防衛反応を示す(Karbanら2004)が、食害またはHIPVsの受容による形質変化の詳細はわかっていない。そこで、まず植物間コミュニケーションによる誘導防衛が生態学的にどのような役割を持っているかを明らかにするために、誘導防衛が実際に野外でどのような時期、またはどのような変化によって生じるのかを明らかにする。

(2) 植物間コミュニケーションの適応的意義：HIPVsは、無傷の近隣個体の誘導防衛反応を引き起こすため、その近隣個体の適応度を変化させると考えられる。その一方で、誘導防衛が起こる範囲に生育する個体は近縁関係にある確率が高く、HIPVsによる誘導防衛は血縁選択の結果である可能性がある。また、ごく近くに生育する個体間でHIPVs組成は類似し、HIPVs組成の類似性と遺伝的近縁度、および誘導防衛の強さが相関する可能性も存在する。そこで、植物間コミュニケーションの適応的意義や進化的背景を明らかにするために、HIPVsによる誘導防衛が植物の適応度に与える影響をさまざまな観点から評価する。

(3) 植物間コミュニケーションについては、その意外性から、現象の信憑性も含め多くの議論がなされてきた。しかし、最近になり、植物間コミュニケーションを支持するいくつかの事例報告がされている(Dicke and Bruin 2001)。しかし、それらの多くは室内における操作実験によるもので、野外条件で

は同所的に生育しない種間でのコミュニケーション実験が含まれている。従って、そのような人工的実験系では、植物間コミュニケーションの適応性や、進化の道筋を明らかにすること難しい。Sagebrush (*Artemisia tridentata*) の誘導防衛反応は、野外で植物間コミュニケーションを確認した数少ない事例の一つである (Karban et al. 2004, 2006)。本研究では、野外環境に生育する sagebrush を対象とし、多様な実験系を作り、実際の適応度の変化を評価することで、植物間コミュニケーションの適応進化学的意義を明らかにする。

一方で、植物間コミュニケーションは、害虫防除など農業への応用も期待でき、「植食者誘導性揮発性物質 (HIPVs)」を受容した場合の遺伝子発現など細胞学的な研究は多く行われている。しかし、防衛反応を引き起こす HIPVs 成分については、いくつかの候補は挙げられているが、野外で実際に機能している成分はほとんど特定されていない。Sagebrush の HIPVs には多くの成分が含まれ、その組成も個体によって異なる。このような現象は、個体間の情報伝達機構を明らかにしていく上で非常に興味深く、sagebrush の HIPVs 組成の類似性と防衛反応の誘導性および遺伝的近縁度の関連を明らかにすることは、HIPVs 組成の決定要因や情報伝達機構を解明することにつながると考える。

3. 研究の方法

(1) 誘導防衛機構の解明 : Sagebrush は葉への食害により「植食者誘導性揮発性物質 (HIPVs)」を通じて、防衛反応を示す。そこで、まず植物間コミュニケーションによる誘導防衛の生態学的役割を明らかにするために、誘導防衛が実際に野外でどのような時期、またはどのような変化によって生じるのかを明らかにする。

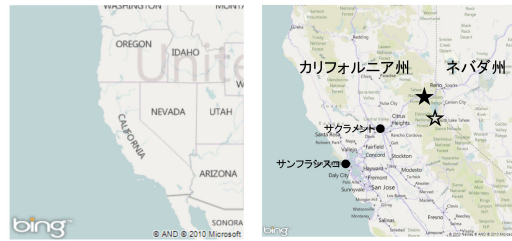
(2) 植物間コミュニケーションの適応的意義 : HIPVs は、無傷の近隣個体の誘導防衛反応を引き起こすため、その近隣個体の適応度を変化させる。その一方で、誘導防衛が起こる範囲に生育する個体は近縁関係にある確率が高く、HIPVs による誘導防衛は血縁選択の結果である可能性がある。そこで、生育する個体間で HIPVs 組成は類似性と遺伝的近縁度、および誘導防衛の強さの関連性を明らかにする。

4. 研究成果

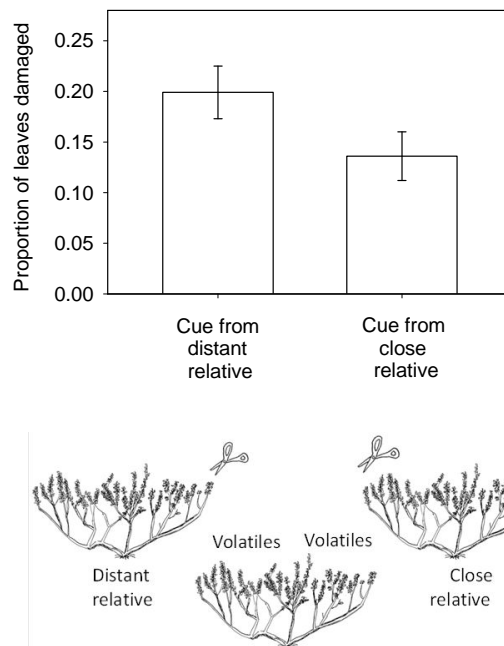
野外生態調査およびサンプルの採集は、アメリカ合衆国カリフォルニア州の Sagebrush (*Artemisia tridentata*) の 2 カ所の自生地で行った。

Sagehen Creek 地区 (39° 26' 67" N, 120° 11' 30" W)

Mammoth Lake 地区 (37° 36' 57" N, 118° 49' 47" W)



(1) 我々の研究により、セージブラッシが自己の匂いを受容したときに、もっともその誘導抵抗性が高まることが知られていた。そこで、我々は 400 個体以上の匂い分析 (ガスクロマトグラフィー質量分析計) と遺伝子解析 (マイクロサテライトマーカー) をした結果、各個体で放出する匂いが異なり、さらに個体間の血縁度が高いほど、放出する匂いが似ていることが明らかになった。



そこで、個体の匂いを受容させた場合において、受容個体の葉の被害度の違いを調べてみると、血縁度の高い個体の匂いを受容した場合の方が、被害度が明らかに低くなっていた。つまり、セージブラッシは血縁度の違いまで匂いで識別できることが示唆された。

(2) セージブラッシの実生に対する匂い効果を明らかにするために、実生の近くに生育する個体に傷をつけ、実生に匂いを放出させた実生グループと、傷をつけなかった個体の近くにいた実生グループにおいて、夏までの実生の生存数を調べた。春先において各グループとも 1,000 個体近くあった実生が、夏になると殆ど消滅することが分かった。しかしながら、傷をつけた個体の近くにいた実生グループ内の方が、生存個体が多かった。さらに、1・2 年経過した実生においても、匂い受容の効果をしらべたところ、匂いを受容した実

生の方が、葉の被害が低いことが明らかになった。セージブラッシの種子は自然落下し、種子は殆ど親個体の麓に散布されるため、本実験では殆どの実生が自分の親個体の匂いを受容していたものと考えられる。このことから、セージブラッシの実生における、匂いコミュニケーションの重要性を示唆した。

(3) セージブラッシは地下茎による繁殖と種子繁殖を行う。種子繁殖は(2)で述べたとおり、自然落下のため、親個体のそばに実生が生育する。我々は、野外に10m×10mのコドラートを設置し、分布と遺伝子を調べた。その結果、近い個体ほど血縁度が高いことが明らかになった。これは、セージブラッシの繁殖パターンを支持する。そして、この分布パターン、繁殖パターンが、匂いで血縁認識する要因の一つなのであろうと考える。

(4) セージブラッシは常緑植物だが、雪解け後(春先)に新しい葉を展葉する。そして、初夏に花芽、夏に花を咲かせ、秋に種子をつける。これまでの我々の研究において、葉の抵抗性の誘導は、春に匂いを受容したときにのみ見られることがわかってきた。そこで、さらに我々は、初夏に匂いを受容したときには別の誘導反応が起こっていると考えた。そこで、初夏の生活史において花芽形成が特徴的なので、匂いと花芽形成とが関与しているのではないかと考えた。初夏に匂いを受容した個体の花芽数と匂いを受容していない個体の花芽数を夏の終わりにカウントしたところ、匂いを受容した個体の方が花芽が多くなることが明らかになった。現在、そのメカニズムを明らかにするため、花芽を食害するアブラムシに注目して実験を行う予定である。

(5) 植物間コミュニケーションにおいて、匂いを受容する時間がどの程度必要なかを明らかにした。これまでの我々の研究から、切った枝を袋掛けして匂いを捕集し、その溜めた匂いを別の枝に移し替えることで、その枝の葉が匂いを受容し誘導反応を引き起こすことが知られていた。そこで、匂い移し替えて、1時間、6時間放置し、そのあと、袋を外したところ、6時間匂いを受容した枝(葉)において誘導反応が確認できた。つまり、匂いコミュニケーションによって誘導反応を引き起こすには、6時間必要であることが明らかになった。

(6) 12年間にわたるセージブラッシの野外操作実験の結果、花芽を形成できる樹齢のセージブラッシにおいて、匂いを受容した分枝の方が、匂いを受容していない分枝よりも、花芽をつける枝が多くなることが明らかになった。一方で、若い個体(花芽形成前の若い個体)の分枝の生存率は匂い受容の有無には

関係なかった。このことから、匂い受容の効果は、樹齢によって異なることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計4件)

Narita TB, Kikukawa TW, Sato YG, Miyazaki SH, Morita N, Saito T, Role of fatty acid synthase in the development of *Dictyostelium discoideum*., Journal of Oleo Science, 63, 査読有, 2014, pp.281-289 DOI: 10.5650/jos.ess13142
Karban R, Shiojiri K, Ishizaki S, Wetzel WC and Evans RY, Kin recognition affects plant communication and defence., Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences, 査読有, 280, 2013, 20103062, DOI: 10.1098/rspb.2012.3062
Sato YG, Kagami HN, Narita TB, Fukuzawa M and Saito T, Steely enzymes are involved in prestalk and prespore pattern formation., Bioscience Biotechnology Biochemistry, 査読有, 77, 2013, pp.2008-2012, DOI: 10.1271/bbb.130294
Ishizaki S, Shiojiri K, Karban R and Ohara M, Clonal growth of sagebrush (*Artemisia tridentata*) (Asteraceae) and its relation to volatile communication., Plant Species Biology, 査読有, 27, 2012, pp.69-76, DOI: 10.1111/j.1442-1984.2011.00333.x

〔学会発表〕(計4件)

塩尻かおり, 匂いが織りなす生態系、第45回 種生物学シンポジウム(招待講演)、2013年12月1日、別府市ふれあい広場サザンクロス(大分県別府市)
塩尻かおり, かおりが取りもつ植物の社会、日本植物学会第77回(札幌)大会(招待講演)2013年9月15日、北海道大学・学術交流会館講堂(札幌市)
塩尻かおり, 植物の匂いを介した血縁認識、日本生態学会第60回全国大会(招待講演)2013年3月8日、静岡県コンベンションセンター(静岡市)
塩尻かおり, 植物揮発性物質が駆動する生物間相互作用ネットワークの解明、日本生態学会第60回全国大会、2013年3月7日、静岡県コンベンションセンター(静岡市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大原 雅 (OHARA, Masashi)
北海道大学・地球環境科学研究科 (研究
院)・教授
研究者番号：90194274

(2) 研究分担者

塩尻 かおり (SHIOJIRI, Kaori)
京都大学・次世代研究者育成センター・助
教
研究者番号：10591208

齋藤 玉緒 (SAITO, Tamao)
上智大学・理工学部・准教授
研究者番号：30281843